

**Newsletter Numero 95 – Maggio 2017**

Attenzione: le informazioni riportate hanno solo un fine illustrativo
e non sono riferibili né a prescrizioni né a consigli medici

Sommario**⇒ Oncologia**

- Modelli clinico-farmacologici per i trattamenti oncologici personalizzati: applicazione al mesotelioma maligno
- La neuropatia periferica indotta da bortezomib: uno studio di associazione *genome-wide* condotto su pazienti affetti da mieloma multiplo
- Neuropatia periferica indotta da paclitaxel associata alla presenza dell'SNP del gene *ABCB1* ed all'età
- I polimorfismi a singolo nucleotide nel *pathway* IGF-IRS sono associati con l'esito clinico dei pazienti affetti da mCRC arruolati per il trial FIRE-3

⇒ Neurologia

- Polimorfismo OPRM1 C.118A>G e durata della terapia con morfina associati al dosaggio di morfina e alla qualità di vita nelle cure palliative del dolore neoplastico
- Studio di genetica su neuregulina 1 e recettore tirosin-chinasico erbB4 nella discinesia tardiva

⇒ Cardiovascolare

- Associazione farmacogenetica dei polimorfismi del recettore adrenergico $\beta 1$ con eventi cardiovascolari avversi nel trial SPS3 (*Secondary Prevention of small subcortical Strokes*)

⇒ Immunomodulazione

- CCL20 è negativamente regolato da TGF- $\beta 1$ nelle cellule epiteliali intestinali e meno espresso in pazienti con malattia di Crohn che rispondono con successo al mongersen, un oligonucleotide antisense per Smad7

ONCOLOGIA**MODELLI CLINICO-FARMACOLOGICI PER I TRATTAMENTI ONCOLOGICI PERSONALIZZATI: APPLICAZIONE AL MESOTELIOMA MALIGNO**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il mesotelioma maligno (MM) è una malattia aggressiva con prognosi infausta, solitamente associata all'esposizione ad asbesto. La chemioterapia pemetrexed + cisplatino ha migliorato l'outcome clinico dei pazienti ed è per questo diventata il trattamento standard; risultati simili sono stati ottenuti con la combinazione gemcitabina + cisplatino; nonostante il miglioramento nella sopravvivenza, i tassi di risposta rimangono comunque bassi, raggiungendo solo il 40%, e per questo l'identificazione di biomarkers di risposta è necessaria.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di costruire un modello clinico farmacogenetico per la risposta a gemcitabina/cisplatino e pemetrexed/cisplatino e sviluppare un algoritmo basato sul genotipo, in modo da facilitare la scelta del trattamento farmacologico. Per fare ciò sono stati presi in esame polimorfismi riportati come associati con la risposta clinica nel MM (MTHFD1 rs2236225, XRCC1 rs25487, ABCC2 rs2273697, RRM1 rs1042927, ERCC2 rs13181, ERCC1 rs3212986). Nello studio sono stati arruolati un totale di 189 pazienti sloveni affetti da MM; in particolare, per costruire il modello di risposta per la chemioterapia gemcitabina/cisplatino sono stati inclusi 71 pazienti (training group) e per la validazione 66 soggetti; per la risposta a pemetrexed/cisplatino sono stati impiegati 57 pazienti (training) e 20 per validazione; considerando che in Slovenia il trattamento pemetrexed/cisplatino è inusuale, in questo caso i pazienti potevano essere indipendentemente in prima o seconda linea. L'endpoint primario è stato il tempo libero da progressione (PFS); la risposta tumorale è stata valutata impiegando i criteri RECIST. Per costruire i modelli sono stati attribuiti dei punteggi ai singoli pazienti, sommando quelli ottenuti per singole variabili inserite nel modello; a punteggi maggiori corrispondevano valori di sopravvivenza più brevi.

Modello gemcitabina/cisplatino. Il gruppo di training e di validazione presentavano differenze in termini di età e risposta clinica. Infatti il primo gruppo era significativamente più giovane del secondo ($p=0.05$) e mostrava una risposta migliore ($p=0.005$), rispetto al set di validazione. Il gruppo di training presentava una PFS più lunga ($p=0.006$; HR=0.35; 95%CI=0.16-0.74) ma non OS ($p=0.12$; HR=0.54; 95%CI=0.24-1.18); inoltre 11 pazienti (15.5%) erano stati operati chirurgicamente con una differenza significativa rispetto al gruppo di validazione ($p=0.004$). In questo gruppo gli SNP XRCC1 rs25487, RRM1 rs1042927, ERCC2 rs13181, ERCC1 rs3212986 erano significativamente associati con PFS ed OS. Il modello clinico-farmacogenetico (C-PGx) generato ha mostrato un valore predittivo migliore del modello clinico (che includeva solo variabili cliniche). Il valore AUC per predire la PFS ($> 0 < 8$ mesi) era di 0.732 ($p=0.001$; 95%CI=0.61-0.85) per il modello C-PGx e 0.581 ($p=0.24$; 95%CI=0.45-0.72) per quello clinico. Nel modello C-PGx il cut-off di 0.75 aveva una sensibilità di 0.615 e specificità di 0.812. Pazienti con un score > 0.75 mostravano PFS ($p<0.001$; HR=2.75; 95%CI=1.75-4.32) ed OS ($p<0.001$; HR=2.77; 95%CI=1.73-4.44) significativamente più brevi, comparati con i pazienti con punteggi minori. PFS e OS mediane erano rispettivamente 13 (8-24.5) e 26 (16-41.3) mesi, per i pazienti con score < 0.75 , mentre per quelli con score > 0.75 erano 7 (5-9) e 14 (9-19.5) mesi. Risultati simili sono stati ottenuti anche per il gruppo di validazione; anche in questo caso pazienti con valori di cut-off > 0.75 mostravano PFS ed OS più brevi.

Modello pemetrexed/cisplatino. In questo modello sono stati inclusi i polimorfismi MTHFD1 rs2236225 e ABCC2 rs2273697 che erano risultati associati con risposte cliniche e PFS migliori. Anche in questo caso, il modello C-PGx si è rivelato migliore del modello clinico. Il valore di AUC per predire PFS ($> 0 < 6$ mesi) era 0.684 ($p=0.018$; 95%CI=0.54-0.83), mentre il valore di cut-off di 2.7 mostrava sensibilità = 0.75 e specificità = 0.607. Pazienti con score > 2.7 mostravano PFS ed OS significativamente più brevi ($p<0.001$; HR=2.73; 95%CI=1.86-4.00) e ($p<0.001$; HR=2.45; 95%CI=1.643-3.65). PFS e OS mediane erano rispettivamente 8.1 (4.5-15.9) e 11.3 (4.7-23.9) mesi, per i pazienti con score < 2.7 , mentre per quelli con score > 2.7 erano 4.8 (1.5-6.2) e 7.6 (4.4-10.9) mesi. Per il gruppo di validazione sono stati osservati risultati simili al gruppo di training. Il modello forniva risultati migliori restringendo l'analisi ai pazienti in prima linea di terapia, a causa del fatto che i pazienti in seconda linea avevano tempi di sopravvivenza più corti. Tuttavia anche combinando i pazienti in prima e seconda linea, il modello manteneva la significatività statistica.

Basandosi sui modelli generati, gli autori hanno infine proposto un algoritmo per stratificare i pazienti in due gruppi di trattamento. Sulla base di questo è risultato che l'85.5% dei pazienti avrebbe potuto essere trattato con un migliore approccio terapeutico, favorendo quindi il miglioramento dell'esito clinico nel MM.

Questo studio è un esempio di come, impiegando la farmacogenetica, si possa personalizzare la terapia per raggiungere tassi di risposta più alti. I modelli generati dovranno certamente essere confermati in coorti di

popolazioni più ampie, ma data la rarità del mesotelioma maligno, si può ritenere questo lavoro un ottimo punto di partenza. Gli autori stessi suggeriscono che questi modelli potrebbero essere ulteriormente migliorati includendo parametri clinici addizionali come lo stadio tumorale o il dolore.

Infine, va sottolineato che modelli di questo tipo hanno il vantaggio di essere poco invasivi ed economici e potrebbero essere facilmente introdotti in clinica per guidare la scelta del migliore trattamento farmacologico.

In conclusione, questo studio presenta due modelli clinici-farmacogenetici per la personalizzazione della terapia chemioterapica con pemetrexed/cisplatino o gemcitabina/cisplatino nel mesotelioma maligno.

Parole chiave: Mesotelioma maligno, chemioterapia pemetrexed-gemcitabina-cisplatino, modello clinico farmacogenetico

Riferimento bibliografico

[Goričar K](#) et al. *Sci Rep* 2017, 7: 46537.

LA NEUROPATIA PERIFERICA INDOTTA DA BORTEZOMIB: UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* CONDOTTO SU PAZIENTI AFFETTI DA MIELOMA MULTIPLO

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Il mieloma multiplo (MM) è una neoplasia ematologica a carico delle plasmacellule, tipicamente risultante in un'infiltrazione tumorale del midollo osseo. Tra i sintomi associati all'insorgenza di MM si annoverano ipercalcemia, lesioni osteolitiche, insufficienza renale ed anemia. Ad oggi, bortezomib, un inibitore reversibile del proteosoma 26S, costituisce un farmaco di prima linea per il trattamento di MM di nuova insorgenza o recidivante. Tuttavia, uno dei più comuni effetti avversi indotti dalla somministrazione di bortezomib è la neuropatia periferica, risultante dal manifestarsi di lesioni, infiammazione e degenerazione farmaco-indotte a carico di fibre del sistema nervoso periferico (SNP). Evidenze in letteratura suggeriscono che geni implicati nel *signaling* delle MAP chinasi, regolazione del ciclo cellulare, riparazione del DNA, sviluppo del SNP, disfunzione mitocondriale e pathway di NFkB2, sembrano essere fortemente coinvolti nella regolazione dei meccanismi biologici sottesi all'insorgenza di neuropatia periferica indotta da bortezomib. Un recente studio di associazione *genome-wide* (GWAS) condotto su pazienti europei affetti da MM e in terapia con bortezomib ha evidenziato una correlazione tra varianti in geni implicati nel dolore neurologico (PKNOX1 e CBS) e l'insorgenza di neuropatia periferica farmaco-indotta. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di condurre uno studio GWAS su una più ampia popolazione di soggetti caucasici con diagnosi di MM ed in trattamento con bortezomib al fine di identificare/validare potenziali fattori genetici predittivi dell'insorgenza di neuropatia periferica bortezomib-indotta.

Lo studio GWAS è stato condotto su 646 pazienti affetti da MM e trattati con bortezomib, arruolati per il German-Speaking Multicenter Group. Bortezomib è stato somministrato in combinazione con doxorubicina e desametasone (regime PAD) oppure in associazione a ciclofosfamide e desametasone (regime VCD). Dei 646 pazienti inclusi nello studio, 102 (15,8%) hanno sviluppato neuropatia periferica da bortezomib di grado 2-4. Nello specifico, l'insorgenza di neuropatia periferica è stata del 17,5% (n=84) nei soggetti a cui bortezomib è stato somministrato per via endovenosa mentre è stata pari al 10,4% (n=16) in caso di somministrazione del farmaco per via sottocutanea. In 12 pazienti la modalità di somministrazione di bortezomib è passata dall'essere intravenosa a sottocutanea nel periodo in studio, e 2 soggetti di questi (16,7%) hanno sperimentato la neuropatia periferica come effetto avverso. La genotipizzazione è avvenuta tramite Arrays Illumina Human OmniExpress. Sono stati inclusi nell'analisi, dopo controllo di qualità, gli SNPs con *call-rate* $\geq 95\%$, in equilibrio di Hardy-Weinberg ($P > 1,0 \times 10^{-5}$) e con una frequenza dell'allele minore $> 1\%$. La significatività statistica *genome-wide* è stata posta a $P < 5,0 \times 10^{-8}$. È stata, inoltre, effettuata imputazione del genotipo tramite IMPUTEv2. Al fine di stimare l'impatto delle varianti analizzate sull'espressione genica è stato utilizzato il database ENCODE.

Nessuna delle varianti genetiche in studio è emersa essere correlata ad un livello di significatività statistica *genome-wide* al rischio di insorgenza di neuropatia periferica indotta da bortezomib ($P > 5,0 \times 10^{-8}$). Tuttavia, 4 SNPs sono risultati essere associati all'*outcome* in studio con $P < 5,0 \times 10^{-5}$ (rs6552496, $P=7,82 \times 10^{-6}$; rs12521798, $P=3,80 \times 10^{-6}$; rs8060632, $P=1,58 \times 10^{-6}$; rs17748074, $P=8,60 \times 10^{-6}$). Nello specifico, rs6552496 è una variante intergenica localizzata a monte dei geni RP11-665C14.2 e TENM3 (quest'ultimo codificante per una proteina transmembrana coinvolta nei meccanismi di crescita neuronale) ed è sita a livello dei siti di legame per i fattori di trascrizione Foxo, Gfi e Gfi1b. Analogamente, gli SNPs rs12521798, rs8060632 e rs17748074 sono localizzati in geni implicati nella crescita e sviluppo neuronale e sono noti per interferire nel legame tra alcuni specifici fattori trascrizionali (rs12521798: AP-1, HDAC2, Irf e p300; rs8060632: Nr2f2 e Smad1; rs17748074: Maf e Pax2) ed il proprio sito di legame. Infine, gli SNPs, emersi da un precedente studio GWAS, come predittori genetici dell'insorgenza di neuropatia periferica bortezomib-indotta non sono stati ivi validati.

Nonostante non siano emersi, nel presente studio GWAS, polimorfismi genetici correlati ad un livello di significatività statistica *genome-wide* all'*outcome* di interesse, i *trends* di associazione identificati per rs6552496, rs12521798, rs8060632, rs17748074 supportano l'ipotesi che la variabilità genetica individuale possa modulare il rischio di insorgenza di neurotossicità periferica indotta da bortezomib in pazienti affetti da MM. Si evidenzia, inoltre, la mancata replicazione di SNPs emersi da un precedente studio GWAS come potenziali fattori genetici predittivi dell'insorgenza di neuropatia periferica bortezomib-indotta. A fronte di una limitata numerosità campionaria e dell'assenza di una corte interna indipendente di replicazione, si rendono necessari ulteriori e più ampi studi finalizzati ad identificare e validare i fattori genetici predittivi dell'insorgenza di neurotossicità periferica in pazienti affetti da MM e trattati con bortezomib.

In questo studio, nessuna delle varianti analizzate è emersa essere correlata ad un livello di significatività statistica *genome-wide* all'insorgenza di neuropatia periferica indotta da bortezomib in pazienti caucasici affetti da mieloma multiplo.

Parole chiave: mieloma multiplo, bortezomib, neuropatia periferica

Riferimento bibliografico

[Campo C](#) et al. *Hematol Oncol* 2017 Mar 20 [Epub ahead of print].

NEUROPATIA PERIFERICA INDOTTA DA PACLITAXEL ASSOCIATA ALLA PRESENZA DELL'SNP DEL GENE *ABCB1* ED ALL'ETÀ

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il paclitaxel rappresenta un componente chiave nel trattamento del carcinoma metastatico della mammella in stadio precoce, ed il suo utilizzo è associato con l'insorgenza di neuropatia periferica (*paclitaxel-induced peripheral neuropathy*, PIPN) che si presenta in particolare con sintomi sensitivi (intorpidimento, formicolio, dolore urente con una distribuzione a calza e guanto). L'insorgenza di PIPN può limitare il numero di dosi somministrate e ridurre significativamente la qualità della vita, potendo persistere anche per diversi anni e intensificarsi dopo il completamento della chemioterapia. L'incidenza dipende da diversi fattori, quali il dosaggio, l'uso di composti del platino, la presenza di co-morbidità come il diabete. La presenza di SNP nei geni coinvolti nel metabolismo e nel trasporto del paclitaxel potrebbe spiegare la variabilità nell'insorgenza di tossicità. Uno dei possibili candidati come fattore di rischio di PIPN è il gene *CYP2C8*3*, le cui varianti sono state associate con un aumento dell'insorgenza di neuropatia di grado uguale o superiore a 2 (Hertz DL et al. *Ann Oncol* 2013, 24:1472–8) e con un ridotto metabolismo e conseguente aumento dell'esposizione al farmaco (Dai D et al. *Pharmacogenetics* 2001, 11:597–607; Bergmann TK et al. *Pharmacogenom J* 2011, 11:113–120). Varianti del gene *ABCB1* sono state anche associate con l'insorgenza di neuropatia: in particolare la variante 3435 TT è stata associata con neurotossicità di grado uguale o superiore a 2 rispetto alle varianti TC e CC (Kus T et al. *Onco Targets Ther* 2016, 9:5073–80), ma non è stata trovata una variabilità nella farmacocinetica (Henningsson A et al. *Clin Cancer Res* 2005, 11:8097–104). La variante 2677 GG è stata associata con un effetto protettivo (Gréen H et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009,

104:130–7) mentre il polimorfismo 1236 è stato associato con modifiche nella farmacocinetica e rischio di tossicità in pazienti giapponesi (Fujiwara Y et al. *Cancer Sci* 2016, 107:1117–23; Hamada A et al. *Pharmacogenomics* 2012, 13:615–24). Un'associazione tra PIPN e polimorfismi nei geni codificanti enzimi del metabolismo e trasportatori non è stata definitivamente dimostrata. Inoltre, non è stata riportata un'associazione definitiva tra PIPN ed età, anche se in pazienti giapponesi anziani è stata riscontrata l'insorgenza di PIPN severa (Tanabe Y. et al. *Int J Clin Oncol* 2013, 18:132–8).

In questo studio riportiamo una valutazione retrospettiva dell'impatto della presenza di polimorfismi e dell'età nello sviluppo di PIPN in pazienti giapponesi con carcinoma della mammella in trattamento adiuvante con paclitaxel.

Sono stati arruolati 162 pazienti donne giapponesi, di età media pari a 50 anni. Di queste pazienti, 127 sono stati trattati con paclitaxel settimanale e nel 52% dei casi (66) hanno presentato PIPN di grado 2 o superiore. L'insorgenza di PIPN di grado ≥ 2 è stata associata con l'età ≥ 60 anni (odds ratio 3.30 rispetto all'età < 60 anni; $p=0.006$). Nessuno dei 4 SNP valutati è stato associato significativamente con PIPN di grado ≥ 2 . Tuttavia, l'*ABCB1* 1236 TT ha mostrato un *trend* di associazione rispetto al genotipo CT/CC nel modello recessivo (odds ratio 2.1; $p=0.051$). Nei pazienti di età ≥ 60 anni l'associazione era invece significativa ($p=0.027$), mentre nessuna associazione è stata riscontrata per il genotipo *ABCB1* 1236 TT tra i pazienti di età < 60 anni. Nell'analisi multivariata, l'età (odds ratio 3.652; $p=0.005$) e la presenza del genotipo *ABCB1* 1236 TT (odds ratio 2.404; $p=0.034$) sono state identificate come fattori di rischio indipendenti per l'insorgenza di PIPN di grado ≥ 2 .

In questo studio è stata valutata retrospettivamente l'influenza dell'età e di geni candidati con funzione nel trasporto o nel metabolismo del paclitaxel nell'insorgenza di PIPN in pazienti affette da carcinoma della mammella. L'analisi multivariata ha rivelato che la variante *ABCB1* 1236 TT e l'età ≥ 60 anni sono associate significativamente con PIPN di grado 2 o superiore. Diversi fattori possono contribuire alle variazioni della *clearance* in pazienti anziani (Ginsberg G. et al. *Environ Health Perspect* 2005, 113:1243–9), tra cui una riduzione del volume epatico, del flusso ematico e della produzione di bile, oltre che una riduzione del contenuto di citocromi (Zeeh J, Platt D *Gerontology* 2002, 48:121–7; Sotaniemi EA et al. *Clin Pharmacol Ther* 1997, 61:331–9). I geni candidati coinvolti nella farmacocinetica e farmacodinamica del paclitaxel giocano un ruolo importante nello sviluppo di PIPN. In particolare, l'*ABCB1* 1236 TT e l'*SLCO1B3* TT sono stati identificati come fattori di rischio, ma i dati disponibili fino ad ora in letteratura non riportavano dati chiari a supporto (Abraham JE et al. *Clin Cancer Res* 2014, 20:2466–75; Chang H et al. *Ann Oncol* 2009, 20:272–7).

In conclusione, l'insorgenza di PIPN è stata associata con l'età ≥ 60 anni e presenza del genotipo *ABCB1* 1236 TT in pazienti giapponesi affette da carcinoma della mammella trattati con paclitaxel. Il dosaggio ottimale di paclitaxel nei pazienti anziani necessita di ulteriori studi per ridurre il rischio di PIPN. Sebbene questi dati non siano conclusivi per supportare l'esecuzione di test genetici nella prevenzione della neurotossicità da paclitaxel, la valutazione combinata dell'età e dell'SNP *ABCB1* potrebbe aiutare nell'identificazione dei pazienti ad alto rischio.

Limiti dello studio sono rappresentati dall'impossibilità di distinguere tra l'allele 2677G e 2677A con il metodo utilizzato, sebbene l'influenza del genotipo 2677A sia di minore importanza. Inoltre, la potenza dello studio risulta bassa, in particolare per l'analisi dei sottogruppi.

Parole chiave: neuropatia periferica, *ABCB1*, paclitaxel

Riferimento bibliografico

[Tanabe Y](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2017, 79(6): 1179-86

I POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE NEL PATHWAY IGF-IRS SONO ASSOCIATI CON L'ESITO CLINICO DEI PAZIENTI AFFETTI DA MCRC ARRUOLATI PER IL TRIAL FIRE-3

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il *pathway* del Fattore 1 per la Crescita Insulinica (IGF)/Recettore per il Fattore di Crescita Insulino-simile (IGF1R) è un mediatore chiave della risposta delle cellule tumorali al microambiente metabolico e della regolazione del metabolismo cellulare, della proliferazione, della sopravvivenza e dell'angiogenesi. Questo *pathway* è stato identificato come un determinante critico per lo sviluppo del tumore coloretale (CRC) e numerosi studi sono concordi nell'affermare che una iperinsulinemia può essere fattore sia di rischio sia prognostico. I Substrati 1 e 2 per i Recettori Insulinici (IRS1-2) sono le proteine modulatrici dei segnali a valle di IGF/IGF1R, in grado di attivare e regolare le chinasi del fosfatidilinositolo (PI3K) e quella dei segnali extracellulari (ERK). IRS1 è sovraespresso nel carcinoma colon-rettale (CRC) ed è stato associato con progressione tumorale e sviluppo di metastasi; l'espressione della proteina e dell'mRNA di IRS2 sono invece positivamente correlati con la trasformazione dell'epitelio intestinale in adenoma e adenocarcinoma. L'attivazione del pathway insulina/IGF-dipendente rappresenta inoltre un possibile meccanismo di farmacoresistenza alla terapia convenzionale o mirata per i soggetti affetti da CRC trattati con anti-EGFR. L'obiettivo di questo studio è stato duplice: l'identificazione di un ruolo predittivo/prognostico dei polimorfismi di IRS1 e IRS2, e la validazione prospettica dei risultati ottenuti da un precedente studio agli SNP di IGF/IGF1R nel trial di fase III randomizzato FIRE-3.

Sono stati raccolti 600 tessuti (da paraffina) di tumore primario da pazienti affetti da adenocarcinoma al 4 stadio, appartenenti al trial di fase III FIRE-3 e trattati con FOLFIRI più bevacizumab (braccio B, 295 soggetti) o FOLFIRI più cetuximab (braccio A, 305 pazienti). I polimorfismi su IRS1/2 sono stati selezionati in modo che avessero una MAF>5% nella popolazione caucasica, fossero citati in Pubmed, soprattutto in associazione con tumori e avessero una relazione significativa con trascrizione genica o espressione proteica. Sono stati analizzati 8 SNP: 4 di IRS (IRS1 rs1801278, rs1801123; IRS2 rs1805097, rs2289046) e 4 SNP localizzati nel gene IGF1 (IGF1 rs6214, rs6220, rs2946834, rs2016347). Gli endpoint clinici sono stati OS e PFS rispettivamente, definendo PFS come il tempo intercorso fra il primo giorno di trattamento e quello di progressione o morte per qualunque causa. I pazienti sono stati classificati come responsivi se raggiungevano una risposta completa o parziale al trattamento, mentre sono risultati non-responsivi coloro i quali sono rimasti stabili o sono andati incontro a progressione.

Nella popolazione globale, i portatori dello SNP IRS1 rs1801123 C/- (n=105) hanno ottenuto una peggiore sopravvivenza globale, confrontati con i *wild-type* (wt TT, n=464) [OS: 21.3 vs 26.4, HR=1.28 (95% CI 1.00-1.66), p=0.054]. Risultati statisticamente significativi sono stati ottenuti sia per KRAS, per i pazienti wt (n=476) confrontati con i mutati [OS: C/- 21.3 vs T/T 27.6 mesi, HR=1.41 (95% CI 1.05-1.90), p=0.022]; sia per i wt di RAS (n=379) [OS: C/- 21.8 vs T/T 28.6 mesi, HR=1.48 (95% CI 1.07-2.05), p=0.019]. Nell'analisi per test multipli, nessuno SNP è stato riscontrato significativamente associato con OS, e non sono emerse differenze rilevanti suddividendo i due bracci del trattamento.

Nella popolazione generale, i pazienti con IGF1 rs2946834 T/- (n=280) hanno avuto un incremento della PFS rispetto ai portatori del mutato (C/C, n=257), 10.5 mesi rispetto a 9.7 [HR=0.78 95% CI 0.64-0.94, p=0.010]. Una maggiore PFS è stata evidenziata anche per i pazienti KRAS wt. Per quanto riguarda i pazienti RAS wt, viene riscontrata la significatività di IGF1 rs2946834 T/- rispetto ai mutati [HR=0.63 (95% CI 0.50-0.81), p<0.001]. Inoltre, i pazienti con IGF1 rs6220 G/- (n=170) hanno mostrato un incremento di PFS rispetto ai portatori del genotipo A/A (n=198): 11.3 vs 9.9 [HR=0.78 (95% CI 0.61-0.98), p=0.034]. È interessante notare che, nel sottogruppo del braccio A (FOLFIRI più cetuximab), KRAS wt, i portatori di IGF1 rs2946834 T/- hanno raggiunto una PFS migliore rispetto ai genotipi C/C [HR=0.71 (95% CI 0.52-0.98), p=0.039]; risultati simili sono stati raggiunti nei pazienti RAS wt, dove i portatori del genotipo IGF1 rs2946834 T/- hanno ottenuto un miglioramento di OS e PFS rispetto ai C/C [HR per PFS=0.69 (95% CI 0.48-0.99), p=0.047; HR per OS=0.61 (95% CI 0.38-0.98) p=0.040]. Nel braccio B (FOLFIRI più bevacizumab), invece, sottogruppo KRAS wt, i portatori di IGF1 rs2946834 T/- hanno avuto una PFS maggiore rispetto ai C/C [HR=0.71 (95% CI 0.52-0.97), p=0.031]; risultati analoghi sono stati ottenuti nei pazienti RAS wt [HR=0.59 (95% CI 0.41-0.83), p=0.003].

Fra le limitazioni di questo studio troviamo l'assenza di analisi di espressione del gene IRS1 al fine di valutare una possibile correlazione con IRS1 rs1801123, e la perdita di significatività statistica dopo correzione per test multipli.

In conclusione, questo studio conferma il valore prognostico di IGF1 rs2946834 nel CRC metastatico e suggerisce un ruolo prognostico anche per IRS1 rs1801123.

Parole chiave: mCRC, polimorfismi, IGF1R, IRS, bevacizumab

Riferimento bibliografico

[Schirripa M](#) et al. *Int J Cancer* 2017 Apr 1 [Epub ahead of print].

NEUROLOGIA

POLIMORFISMO *OPRM1* c.118A>G E DURATA DELLA TERAPIA CON MORFINA ASSOCIATI AL DOSAGGIO DI MORFINA E ALLA QUALITÀ DI VITA NELLE CURE PALLIATIVE DEL DOLORE NEOPLASTICO

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Il dolore è il sintomo più comune e persistente nei pazienti con neoplasie, specialmente nell'ambito delle cure palliative in fase terminale. Il controllo del dolore è pertanto molto importante per preservare la qualità di vita (QOL) di questi pazienti. In tale contesto, gli oppiacei, e in particolare la morfina, rimangono i farmaci cardine della terapia analgesica. In molti casi il controllo del dolore non è soddisfacente, a causa di diversi fattori: differenze nella biodisponibilità, metabolismo, percezione del dolore, fattori socio-culturali e fattori farmacogenetici. I polimorfismi del gene *OPRM1* (che codifica per il recettore oppioide mu, il principale bersaglio della morfina) sono i fattori genetici più importanti per l'efficacia degli oppiacei. Tra gli SNPs di *OPRM1* rilevanti per l'analgesia oppioide troviamo lo SNP c.118A>G (rs1799971); i pazienti portatori del genotipo GG necessitano di dosi di morfina maggiori rispetto ai pazienti AA. Un altro gene importante per la modulazione dell'efficacia e tossicità degli oppiacei è il gene *COMT* che codifica per la catecol-O-metiltransferasi. La variante genetica del gene *COMT* più frequentemente studiata è il polimorfismo c.472G>A (rs4680; p.Val158Met) che determina una sostituzione da valina a metionina causando una riduzione marcata dell'attività enzimatica. Precedenti studi hanno dimostrato che i pazienti con genotipo Met/Met necessitano di dosi di morfina inferiori per la terapia del dolore rispetto ai pazienti con Val/Met e Val/Val. Infine, lo SNP c.3435C>T (rs1045642) del gene *ABCB1* è un fattore che influenza la farmacocinetica della morfina; pazienti con *ABCB1* TT richiedono dosi inferiori di morfina per la risoluzione del dolore rispetto ai pazienti CC.

Il principale obiettivo del presente studio è indagare eventuali associazioni tra fattori genetici e non-genetici e la necessità di morfina nei pazienti terminali neoplastici. Gli obiettivi secondari consistono nel valutare la relazione tra questi fattori genetici e demografici/clinici da un lato e l'intensità del dolore e la QOL dall'altro.

Tutti i pazienti avevano più di 18 anni, diagnosi di neoplasia e avevano ricevuto uno schema di trattamento con morfina corrispondente allo step III della scala analgesica del WHO. I pazienti sono stati trattati con una dose stabile di morfina per almeno tre giorni prima di essere inclusi nello studio ed hanno poi ricevuto una dose iniziale di morfina via pompa di infusione seguita da una titolazione fino ad una *visual analog scale* (VAS)<4 (morfina diluita in salina 0,5 mL/h per 24 h). In presenza di VAS≥4, sono state somministrate dosi supplementari (corrispondenti a 1/6 della dose giornaliera alla *baseline*). La dose totale nelle 24 ore e il punteggio del dolore sono state valutate ogni 24 o 48 ore. La qualità di vita dei pazienti è stata valutata tramite la EORTC-QLQ-C30. Il dolore è stato auto-valutato dal paziente usando l'item "dolore medio" della VAS durante le 24 ore (0 rappresenta assenza di dolore e 10 dolore massimo). Sono stati genotipizzati i seguenti SNPs tramite PCR usando un *Lightcycler® 2.0* (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany): *OPRM1* (rs1799971), *ABCB1* (rs1045642) e *COMT* (rs4680).

Dei 95 pazienti reclutati, solo 89 hanno completato lo studio (età media di 57 anni, 51,7% maschi e 48,3% femmine; 70% pazienti con metastasi). I pazienti sono stati trattati con morfina per diversi tipi di cancro: tratto gastrointestinale (22,5%), seno (18%), polmone (16,9%), ematologico (10,1%), urogenitale (6,7%), ginecologico (6,7%), prostata (4,5%), pancreas (4,5%), testa e collo (2,25%), sarcoma (2,25%) e altri (5,6%). Il punteggio medio del dolore valutato con la VAS a riposo era $3,4 \pm 2,93$. I punteggi non erano significativamente differenti tra i vari tipi di cancro. Le dosi di morfina erano molto variabili nella popolazione in esame: da 7 a 210 mg per 24 h con dosi medie di $34,78 \pm 33,26$ mg. Le dosi di morfina nelle 24 h erano associate all'età ($p=0,004$) e alla durata dall'inizio del trattamento con morfina ($p<0,001$). Tuttavia, non vi erano correlazioni tra le dosi di morfina e genere, peso, *clearance* della creatinina, metastasi, durata di malattia dalla diagnosi e dolore, come valutato alla VAS. Dopo la correzione di Bonferroni, il solo fattore rimasto significativo era la durata dall'inizio del trattamento con morfina.

L'età, la durata del trattamento con morfina e lo SNP *OPRM1* erano associati in maniera significativa alle dosi di morfina nelle 24 ore ($p=0,043$, $0,029$ e $<0,001$, rispettivamente). La dose media di morfina si riduceva con l'età, ma aumentava con la durata del trattamento con morfina. Inoltre, i pazienti con almeno un allele G per c.118A>G *OPRM1* avevano bisogno di dosi maggiori di morfina rispetto ai pazienti AA. Nessuno dei fattori studiati sono risultati associati ai punteggi VAS a riposo. Per quanto riguarda la QOL, 4 fattori erano associati con la QOL: le metastasi, lo SNP di *OPRM1*, l'età e il genere. I pazienti AA per lo SNP di *OPRM1* avevano funzioni cognitive significativamente inferiori rispetto ai pazienti AG: $61,59 \pm 32,38$ versus $80 \pm 28,41$ ($p=0,014$). Infine, le donne avevano più nausea e vomito degli uomini ($45,54 \pm 42,51$ versus $25,36 \pm 32,72$, $p=0,016$).

Nel presente studio, l'età dei pazienti e la durata della terapia con morfina sono stati predittori in misura significativa del consumo di morfina. I pazienti più anziani avevano bisogno di meno morfina dei pazienti giovani, probabilmente a causa di un'alterata farmacocinetica della morfina. Inoltre, le dosi di morfina aumentavano con la durata del trattamento, in accordo con precedenti studi. La spiegazione potrebbe risiedere nella progressione della malattia che richiede una maggiore dose di morfina oppure nella desensitizzazione o nella *down-regulation* dei recettori oppioidi mu correlate alla ripetuta somministrazione di morfina (tolleranza).

Inoltre, i pazienti con almeno un allele 118G per *OPRM1* hanno ricevuto una maggiore dose di morfina rispetto ai pazienti AA, dato in accordo con numerosi studi della letteratura. Tuttavia, l'*European Pharmacogenetic Opioid Study*, che includeva 2294 pazienti neoplastici, non ha confermato questi risultati.

Nel presente studio, i pazienti AA per lo SNP di *OPRM1* mostravano funzioni cognitive inferiori rispetto ai pazienti AG; questo è il primo studio che riporta un'associazione significativa del sistema oppioide con le funzioni cognitive in pazienti trattati con morfina per il dolore. I pazienti con genotipo AA, avendo una migliore attivazione del recettore mu, avrebbero deficit cognitivi, come descritto per l'attivazione del KOR, fenomeno che può spiegare le minori funzioni cognitive.

Inoltre, il presente studio mostra che le donne hanno più nausea/vomito degli uomini, come in precedenza descritto in un ampio campione di pazienti trattati con differenti oppiacei. Questi risultati potrebbero essere spiegati da un'aumentata sensibilità delle donne trattate con morfina dovuta alle variazioni ormonali.

Una delle limitazioni del presente studio risiede nell'aver reclutato pazienti con differenti neoplasie. Inoltre, il campione di pazienti è piuttosto ridotto per lo studio di associazioni genetiche. Infine, anche se la EORTC-QLQ-C30 è uno strumento di valutazione ben validato, rimane uno strumento generale che valuta aspetti generici della QOL e non prende in considerazione i sintomi correlati ad una specifica neoplasia o alla modalità di trattamento o aspetti della QOL influenzati dalla malattia o dal trattamento.

In conclusione, il presente studio mostra che il polimorfismo c.118A>G (rs1799971) *OPRM1* è associato alla dose di morfina in una popolazione di pazienti con malattia neoplastica in fase terminale; i pazienti con genotipo AG necessitano di dosi maggiori di morfina per il controllo del dolore rispetto i pazienti con genotipo AA. Inoltre, i pazienti AA mostrano funzioni cognitive ridotte rispetto ai pazienti AG.

Parole chiave: morfina, polimorfismo, *OPRM1*, *ABCBI*, *COMT*, dolore, farmacogenetica, cancro, qualità di vita

Riferimento bibliografico

Hajj A et al. *Int J Mol Sci* 2017, 18(4) pii: e669

STUDIO DI GENETICA SU NEUREGULINA 1 E RECETTORE TIROSIN-CHINASICO erbB4 NELLA DISCINESIA TARDIVA

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La discinesia tardiva è un grave effetto avverso che può verificarsi in seguito al trattamento prolungato con qualsiasi antipsicotico, ma in particolare con gli antipsicotici di prima generazione, come l'aloperidolo. Si caratterizza per movimenti involontari a livello dell'area orofacciale, del tronco e degli arti. Nonostante siano state proposte varie ipotesi, la patofisiologia della discinesia tardiva non è ancora del tutto chiara. La discinesia tardiva tende a ricorrere nelle famiglie, suggerendo che alla base vi sia una componente genetica. Anche se la maggior parte degli studi che ha investigato le basi genetiche della discinesia tardiva si è concentrata su geni coinvolti nel sistema dopaminergico, di recente il sistema glutamatergico sta ricevendo maggiore attenzione. Infatti, l'iperstimolazione dei recettori glutamatergici è uno dei meccanismi che si è ipotizzato possano essere coinvolti nello sviluppo della discinesia tardiva. Studi precedenti hanno suggerito un'associazione tra la discinesia tardiva e i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) rs1345423 del gene *GRIN2A* e rs2192970 del gene *GRIN2B*.

La neuregulina 1 è un fattore trofico che, tramite interazione con il suo recettore erbB4, gioca un ruolo importante nel neurosviluppo e nella neuroplasticità. Una alterata funzione dei geni *NRG1* e *ERBB4* è stata implicata nella patogenesi della schizofrenia, si pensa tramite la regolazione dell'attività dei recettori NMDA e dopaminergici. Inoltre, è stato suggerito che vari antipsicotici aumentino i livelli di espressione di *NRG1* e *ERBB4*. Uno studio ha riportato un'associazione tra lo SNP rs35753505 del gene *NRG1* e la discinesia tardiva, mentre nessuno studio ha valutato l'associazione tra questo effetto avverso e il gene *ERBB4*.

Gli autori dello studio hanno valutato l'associazione tra alcuni SNP nei geni che codificano per la neuregulina 1 e il recettore erbB4 e la discinesia tardiva in un campione di pazienti di origine europea affetti da schizofrenia.

Il campione dello studio comprendeva 153 pazienti affetti da schizofrenia o disturbo schizoaffettivo in accordo con i criteri del DSM-III-R/IV, reclutati presso quattro cliniche (Center for Addiction and Mental Health di Toronto; Case Western Reserve University di Cleveland; Hillside Hospital di Glen Oaks e Università della California). I criteri di esclusione comprendevano diabete di tipo II, trauma cranico con perdita di coscienza ed epilessia. Tutti i pazienti erano stati trattati con antipsicotici di prima generazione per almeno un anno. La diagnosi di probabile discinesia tardiva è stata fatta in accordo con i criteri di Schooler e Kane.

Gli SNP selezionati sono stati genotipizzati con metodo TaqMan su DNA genomico, estratto da linfociti mediante metodo di estrazione salina. Gli autori hanno selezionato tre SNP: rs35753505 (primo SNP del gene *NRG1* ad essere stato associato con la schizofrenia), rs6994992 (marker associato con l'espressione differenziale di una isoforma della neuregulina nei pazienti affetti da schizofrenia) e rs839523 (associato con un aumento dell'espressione di alcune varianti di erbB4 nella schizofrenia). I dati sono stati analizzati mediante la costruzione di modelli di regressione logistica o lineare, per testare l'associazione tra gli SNP e la discinesia tardiva o i punteggi della *Abnormal Involuntary Movement Scale* (AIMS), rispettivamente, utilizzando il sesso e l'età come covariate. Inoltre, l'interazione tra i marker dei geni *NRG1* e *ERBB4* è stata analizzata utilizzando l'ANCOVA a due vie. La soglia di significatività è stata fissata a un $p = 0.019$.

Il marker rs839523 del gene *ERBB4* è risultato associato alla discinesia tardiva ($p = 0.014$). In particolare, il genotipo CC è risultato associato con una maggiore incidenza di discinesia tardiva (*odds ratio* = 2.74; $p = 0.003$) e con punteggi medi AIMS più alti ($p = 0.005$). Gli SNP localizzati nel gene *NRG1* non sono risultati associati con la discinesia tardiva o con i punteggi AIMS. Inoltre, non è stata trovata una interazione significativa tra gli SNP localizzati nei due geni.

Lo studio ha mostrato per la prima volta un'associazione tra il gene *ERBB4* e la discinesia tardiva. Tuttavia, questo studio ha esaminato solo una minima parte delle varianti localizzate in questi due geni (ognuno dei quali presenta una lunghezza di oltre 1 Mb). Inoltre, alcuni dei pazienti, specialmente quelli più giovani, potrebbero non avere sviluppato la discinesia tardiva al momento dell'arruolamento ma svilupparla in un'epoca successiva.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra lo SNP rs839523 del gene ERBB4 e la discinesia tardiva nei pazienti con schizofrenia.

Parole chiave: antipsicotici, discinesia tardiva, *ERBB4*

Riferimento bibliografico

Zai CC et al. *World J Biol Psychiatry* 2017 Apr 10 [Epub ahead of print].

CARDIOVASCOLARE

ASSOCIAZIONE FARMACOGENETICA DEI POLIMORFISMI DEL RECETTORE ADRENERGICO β_1 CON EVENTI CARDIOVASCOLARI AVVERSI NEL TRIAL SPS3 (SECONDARY PREVENTION OF SMALL SUBCORTICAL STROKES)

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

L'ictus è la seconda causa principale di morte al mondo dopo la malattia cardiaca ischemica. I fattori di rischio possono essere ipertensione, fibrillazione atriale, dislipidemia e diabete mellito; inoltre, si stima anche un importante coinvolgimento dei fattori genetici. Diverse meta-analisi hanno individuato associazioni tra polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) con ischemia generale, ischemia cerebrale dei piccoli vasi e malattia dei piccoli vasi. Inoltre, gli SNPs che hanno mostrato una maggiore associazione con l'ictus ischemico sono sottotipo-specifici, ciò suggerisce il ruolo potenziale della terapia mirata ("target therapy") per i vari sottotipi di ictus. Sono stati condotti numerosi studi di farmacogenetica cardiovascolare con implicazioni per la prevenzione e il trattamento dell'ictus, con forti evidenze riguardo la terapia anticoagulante e antiaggregante. È stato ampiamente osservato il ruolo delle varianti genetiche di *ADRB1*, che codifica per il recettore adrenergico β_1 (β_1 AR), nella malattia cardiovascolare e nella risposta al trattamento. Tuttavia, è meno noto il rapporto delle varianti *ADRB1* con la patologia e la farmacogenetica dell'ictus ischemico. Gli SNP più comuni e più studiati di *ADRB1* sono le varianti missense rs1801252 (A>G; Ser49Gly) e rs1801253 (G>C; Arg389Gly). È stato dimostrato che gli individui con genotipo omozigote wild-type di questi SNPs hanno una pressione sanguigna inferiore (BP) rispetto ai genotipi omozigote mutato. Inoltre, è stata osservata l'associazione tra ictus ischemico e il genotipo Gly49 e Gly389. Studi in vitro indicano che la variante di β_1 AR Gly49 presenta una maggiore down-regolazione agonista-indotta e Gly389 ha un ridotto accoppiamento di β_1 AR con la proteina Gs. Sulla base di questi risultati, e poiché nel presente studio i principali eventi cardiovascolari avversi (MACE) sono principalmente composti da ictus ischemico ricorrente, gli autori hanno ipotizzato che i portatori dell'allele minore in entrambi i loci potrebbero avere un maggiore rischio di MACE ed una risposta ridotta ai β -bloccanti.

Utilizzando i dati provenienti dal trial SPS3 (*Secondary Prevention of small subcortical Strokes*), gli autori hanno analizzato le associazioni di Ser49Gly e Arg389Gly con i MACE, in particolare ictus ischemico, tra i partecipanti con una storia recente di ictus ischemico delle piccole arterie. Inoltre, hanno testato le associazioni farmacogenetiche tra i partecipanti trattati con β -bloccanti. Per convalidare l'associazione con i MACE, hanno anche testato l'associazione di Ser49Gly con ictus ischemico utilizzando i dati del consorzio SiGN (*Stroke Genetics Network*).

Lo studio SPS3 è un trial clinico multicentrico randomizzato controllato che ha valutato l'effetto di 2 diversi regimi di terapia antipertensiva e antitrombotici sul tasso di ictus ricorrente. Lo studio ha reclutato 3020 partecipanti con età superiore ai 30 anni con ictus ischemico sintomatico delle piccole arterie recente (entro 180 giorni). La popolazione è stata randomizzata in un disegno fattoriale 2x2 ad un regime anticoagulante (aspirina 325 mg al giorno più clopidogrel 75 mg al giorno versus aspirina 325 mg al giorno più il placebo) e in base alla BP (BP sistolico (SBP) <130 mm Hg versus SBP compreso tra 130-149 mm Hg). L'outcome primario era l'ictus ricorrente (ischemico o emorragico); outcomes secondari sono stati il tasso di declino cognitivo ed eventi vascolari importanti (attacco ischemico transitorio, infarto acuto del miocardio,

tromboembolia del sistema nervoso non centrale e morte per tutte le cause). La durata media del follow-up era di $3,9 \pm 1,9$ anni. Per lo studio SPS3-GENES (SPS3 Genetic Substudy), il DNA è stato raccolto da campioni di saliva usando i kit di auto-raccolta del DNA OG-500 (DNA Genotek Inc) su 1139 partecipanti. Il consorzio NINDS (Istituto Nazionale di Disturbi Neurologici) SiGN ha fornito i dati per la validazione, ovvero una meta-analisi sull'associazione con la presenza di ictus ischemico, su un totale di 41475 individui di origine europea e africana. I campioni di DNA raccolti dai partecipanti di SPS3-GENES sono stati isolati utilizzando il kit prepIT-L2P (PT-LP2-45; DNA Genotek Inc). La genotipizzazione per Ser49Gly (rs1801252) e Arg389Gly (rs1801253) è stata eseguita utilizzando un sistema QuantStudio / TaqMan (Life Technologies, Carlsbad, CA).

L'analisi di Kaplan-Meier ha mostrato che i carriers dell'allele Gly49 avevano un'incidenza di MACE significativamente maggiore dei non carriers (log-rank $P=0.005$). Inoltre, l'allele Gly49 è stato associato ad un aumento del rischio di ictus ischemico (log-rank $P=0,007$) e ictus ischemico delle piccole arterie (log-rank $P=0,005$). Nell'analisi di regressione multivariata Cox, che includeva l'aggiustamento per l'uso di β -bloccanti, i carriers dell'allele Gly49 rispetto ai non carriers avevano associazioni marginali con i MACE (rapporto rischio [HR], 1,62; intervallo di confidenza 95% (CI) 1,00-2,68) e con l'ictus ischemico (HR, 1,81; 95% CI, 1,01-3,23). Nell'analisi di convalida SiGN ($n=41475$), l'analisi di regressione logistica multivariata ha mostrato che Gly49 è significativamente associata alla presenza di ictus ischemico delle piccole arterie (odds ratio, 1,14; 95% CI, 1,03-1,26; $P=0,012$), ma non ad altri tipi di ictus ischemico. I carriers dell'allele Gly49 trattati con i β -bloccanti avevano un'incidenza di MACE significativamente maggiore in confronto ad altri gruppi (15,7% contro il 5,8%, log-rank $P=0,0004$). Inoltre, l'analisi di Kaplan-Meier ha mostrato che tra gli individui trattati con β -bloccanti l'incidenza cumulativa di MACE era significativamente maggiore tra i carriers dell'allele Gly49 rispetto a quelli con il genotipo Ser49Ser (15,7% contro il 7,6%, log-rank $P=0,018$). Nell'analisi stratificata di regressione multivariata Cox, i carriers dell'allele Gly49 trattati con β -bloccanti avevano un significativo aumento del rischio di MACE e di ictus ischemico, mentre non esistevano differenze in questi risultati per Ser49Ser trattati con β -bloccanti o i carriers Gly49 non trattati con β -bloccanti. Per quanto riguarda la BP, i carriers dell'allele Gly49 trattati con β -bloccanti avevano un aumento medio della SBP durante il trattamento, ma non PB diastolica, rispetto ai carriers Gly49 trattati con altri antipertensivi (SBP: 132,4 contro 128,4 mm Hg; $P=0,023$).

Il meccanismo con il quale l'allele Gly49 può conferire rischi per ictus ischemico, in particolare delle piccole arterie, non è chiaro. È ben accertato che il β_2 AR è importante nel mediare la vasodilatazione periferica; tuttavia, recenti studi hanno indicato che ciò è vero solo per i vasi di conduttanza di grandi dimensioni, come l'aorta. In arterie più piccole, la vasodilatazione può dipendere principalmente dalla stimolazione β_1 AR. Il normale funzionamento di β_1 AR può attenuare i suoi effetti vasodilatatori in piccole arterie subcorticali. La variante Gly49 di β_1 AR potrebbe attenuare o addirittura invertire la vasodilatazione indotta da β_1 AR in piccole arterie subcorticali.

Questo è stato il primo studio ad esaminare le associazioni farmacogenetiche dei β -bloccanti con ictus ischemico e i dati suggeriscono che l'effetto principale di rischio di MACE e ictus ischemico basato sul polimorfismo Gly49 può essere leggermente aumentato con i β -bloccanti. In particolare, considerando Ser49Ser e nessun trattamento con β -bloccanti, i carriers Gly49 trattati con β -bloccanti hanno aumentato rischio di eventi avversi. Inoltre, i carriers Gly49 trattati con β -bloccanti avevano un rischio aumentato di 3 volte, mentre i carriers di Gly49 non in trattamento avevano un rischio di 2 volte superiore; questo suggerisce che il trattamento con β -bloccanti può avere un effetto amplificatore sull'allele Gly49. Inoltre, l'analisi della BP suggerisce che i carriers Gly49 trattati con β -bloccanti avevano la BP più elevata durante il trattamento, nonostante siano stati trattati con più farmaci antipertensivi. Complessivamente, questi dati suggeriscono che i carriers Gly49 potrebbero essere meno reattivi agli effetti antipertensivi dei β -bloccanti, che è coerente con gli studi precedenti. I nostri dati suggeriscono che questo aumento del rischio potrebbe essere particolarmente importante nei carriers Gly49 trattati con β -bloccanti.

Il polimorfismo ADRB1 Gly49 è stato associato ad ictus ischemico delle piccole arterie, un rischio che può essere aumentato nei pazienti trattati con β -bloccanti.

Parole chiave

β -bloccanti; ictus ischemico, *ADRB1*.

Riferimento bibliografico

Magvanjav O et al. *Stroke* 2017, 48(5): 1337-43

IMMUNOMODULAZIONE**CCL20 È NEGATIVAMENTE REGOLATO DA TGF- β 1 NELLE CELLULE EPITELIALI INTESTINALI E MENO ESPRESSO IN PAZIENTI CON MALATTIA DI CROHN CHE RISPONDONO CON SUCCESSO AL MONGERSEN, UN OLIGONUCLEOTIDE ANTISENTO PER SMAD7**

A cura delle Dott.sse Alessia Di Silvestre e Marianna Lucafò

La malattia di Crohn (CD) è una malattia infiammatoria cronica dell'intestino, che può colpire tutto il tratto gastrointestinale. Si ipotizza che alla base della malattia vi siano delle reazioni autoimmuni, probabilmente scatenate da pregresse infezioni intestinali o da fattori genetici o ambientali.

Il reclutamento persistente dei leucociti nella parete intestinale determina un'alterata risposta infiammatoria che provoca gravi lesioni tissutali.

C-C motif chemokine ligand 20 (CCL20) appartiene alla superfamiglia delle chemochine CC ed è espressa costitutivamente nelle cellule epiteliali intestinali, in particolare la sua produzione è notevolmente aumentata nel tessuto infiammato e nel siero di pazienti con CD.

Il meccanismo che regola l'espressione di CCL20 nei pazienti affetti da CD rimane sconosciuto, ma studi in vitro indicano che il tumor necrosis factor- α (TNF- α) è un forte induttore di CCL20 nelle cellule epiteliali intestinali. Il transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), la cui attività è ridotta nei pazienti con CD a causa degli alti livelli della proteina intracellulare Smad7, è un regolatore negativo della pathway del TNF- α . È stato dimostrato in vitro che l'inibizione di Smad7 nella mucosa di pazienti con CD, attraverso un oligonucleotide antisense, chiamato mongersen, ripristina l'attività di TGF- β 1, riducendo di conseguenza la produzione di citochine infiammatorie.

La somministrazione orale di mongersen in modelli murini con colite sperimentale attenua l'infiammazione intestinale. In un recente studio di fase due, in doppio cieco, i pazienti con CD che ricevono mongersen mostrano alti tassi di remissione e risposta clinica comparati ai pazienti che ricevono il placebo, supportando il ruolo terapeutico del knock-out di Smad7.

Lo scopo di questo studio è di dimostrare che CCL20 è negativamente regolato dal TGF- β 1 e che riducendo Smad7, diminuisce anche l'espressione di CCL20 nei pazienti affetti da CD.

Lo studio è stato condotto su una linea cellulare epiteliale normale (NCM469) che è stata trasfettata in seguito con un plasmide per Smad7. Al fine di verificare se il TGF- β 1 regola la produzione di CCL20, le cellule sono state stimulate con TNF- α (20ng/ml) in presenza o in assenza di un pre-trattamento con TGF- β 1 (2ng/ml). I risultati mostrano che la secrezione della proteina CCL20 è significativamente aumentata in seguito allo stimolo con TNF- α rispetto alle cellule non stimulate ($p=0.03$) e questo effetto è significativamente inibito dal trattamento con TGF- β 1 ($p=0.03$). Nelle cellule NCM460 che over-esprimono Smad7 l'effetto inibitorio del TGF- β 1 è del tutto annullato.

Nei pazienti affetti da CD il TGF- β 1 non funziona in maniera adeguata a causa degli elevati livelli di Smad7. In sei pazienti con CD sono state prelevate biopsie seriali di mucosa di colon infiammato ed esperimenti di immunohistochimica hanno dimostrato una over-espressione sia di CCL20 che di Smad7. Al fine di dimostrare che Smad7 influenza positivamente la produzione di CCL20, l'espressione di Smad7 è stata inibita usando il mongersen. Le biopsie sono state quindi incubate in vitro con mongersen (10 ug/ml), e dopo 36 ore di trattamento è stata osservata una diminuzione nell'espressione di CCL20 ($p=0.03$).

Infine è stato condotto uno studio multicentrico di fase 2, in doppio cieco, su 95 pazienti affetti da CD; tutti i pazienti mostrano un indice di attività della malattia di Crohn (CDAI) tra i 220-400. Ogni paziente ha ricevuto in maniera randomizzata una dose di mongersen di 10, 40 o 160 mg/die o placebo per 14 giorni. La

valutazione clinica è stata effettuata al giorno 0, 15, 28 e 84. I sieri dei pazienti sono stati raccolti ad ogni valutazione clinica. La remissione clinica è stata definita con un valore di CDAI < 150 al giorno 15 e mantenuta per due settimane, la risposta clinica è stata definita con un CDAI che decresce di circa 100 punti al giorno 15.

I livelli sierici di CCL20, prima della terapia farmacologica (baseline), non differivano tra il gruppo di pazienti che hanno ricevuto il mongersen (mediana: 15.2 pg/ml, range: 2.8-231 pg/ml) e il gruppo di pazienti che hanno ricevuto il placebo (mediana: 1.74 pg/ml, range: 5.3-134.2 pg/ml). Inoltre, non c'è alcuna differenza tra i pazienti che hanno risposto al mongersen e coloro che non hanno raggiunto la remissione clinica o risposto al trattamento.

In seguito sono stati misurati i livelli di CCL20 durante il trattamento con mongersen. Nei pazienti responsivi al farmaco o in remissione è stata osservata una significativa diminuzione di CCL20 al giorno 15 ($p=0.01$), al giorno 28 ($p=0.008$) e al giorno 84 ($p=0.0002$) rispetto al baseline.

In dettaglio, nei pazienti in remissione clinica, i livelli sierici di CCL20 diminuivano significativamente al giorno 15 ($p=0.01$) e al giorno 84 ($p=0.001$) ma non al giorno 28 ($p=0.1$); mentre nei pazienti che mostravano una risposta clinica ma non la remissione, è stata osservata una diminuzione dei livelli sierici di CCL20 al limite della significatività solo al giorno 84 rispetto al baseline ($p=0.06$). Nei pazienti che non hanno risposto al mongersen non è stato osservato un cambiamento significativo nei livelli sierici di CCL20.

In conclusione questo lavoro dimostra che nei pazienti affetti da CD, l'aumento di CCL20 è influenzato da Smad7 e che i livelli sierici di CCL20 diminuiscono in seguito al trattamento con mongersen nei pazienti responsivi alla terapia.

Parole chiave: IBD, TGF- β 1, CCL20, Smad7, CD, mongersen

Riferimento bibliografico

[Marafini I](#) et al. *J Crohns Colitis* 2017, 11(5): 603-9.



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori.

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.

sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010 - ISSN 2282-4758

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)

Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Alessia Di Silvestre (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.